

Balogh György Tibor értekezésének bírálata

Balogh György Tibor értekezésének értékeléséhez feltétlenül hozzátartozik a kutatások céljainak és a munkákat lehetővé tevő szakmai-tudományos közegnek az áttekintése.

Az értekezésben bemutatott munkák számos külső, hazai kooperációval, de döntően a Richter Gedeon Nyrt. Kutatási Igazgatóságának Kémiai Főosztályához tartozó Szintézistámogató Laboratóriumban folytak, az originális hatóanyagkutatás céljával. Az originális kutatási célt nem lehet eléggé értékelni, hiszen egy-egy új, sok év erőfeszítéseinek gyümölcseként megszülető hatóanyag nemcsak egyéni, vállalati, hanem nemzeti érték és büszkeség is, ami erkölcsi és anyagi elismerést hoz, mindennek előtt pedig, számos embertársunk életét könnyíti meg.

Egy vegyület hatóanyaggá válásának farmakodinámiás és farmakokinetikai követelményei egyaránt vannak, az utóbbi különösen fontos központi idegrendszeri gyógyszerek esetén, melyek keresése a Richter Gedeon Nyrt. kutatásainak homlokterében áll. Éppen ezért messzemenően indokolt, hogy a Társaság létrehozta azt a kutatási egységet, ami főként ezzel foglalkozik, és amelyben Balogh György Tibor munkái is megszülettek.

Az ezeket összefoglaló értekezésről már előljáróban leszögezhető, hogy értékes munka, ami alap- és alkalmazott kutatási eredményeket egyaránt tartalmaz, és remélhetőleg biztatást ad a Richter néhány további, eredményes kutatójának is a magas tudományos fokozat megszerzésére, ami a jelenlegi, értekezés-apályos időszakban különösen indokolt.

Balogh György Tibor munkájának középpontjában talán a bioreleváns fizikai-kémiai paraméterek meghatározása és hasznosítása áll, de az értekezés erősen inter- és multidiszciplináris, amiben a botanikától a farmakológiáig számos tudományterület megjelenik.

A disszertáció anyagával kapcsolatos konkrét észrevételek, kérdések, kiegészítések, korrekciók az alábbiak:

1. A bőr PAMPA modellben a dodekánt szilikonolajra cserélte, mert utóbbi javítja a membrán vízfelvevő képességét. Míg a dodekán kémiaiilag egységes anyag, addig a szilikonolaj molekulárisan heterogén. Nem lenne-e még egzaktabb a vizsgálat és a rendszer, ha a szilikonolaj valamely komponensét használta volna?
2. A 13. oldalon azt írja, hogy a különböző lipideket/membrán komponenseket szerves parafinokban oldják. Költői kérdés: vannak szerves paraffinok is?
3. A 18. oldalon a bukkális adagolással kapcsolatban okvashatjuk: „...a szájüreg mukózn keresztül a nagyobb méretű molekulák permeabilitása jellemzően kedvezőtlenebb”, később pedig az elnyújtott szájüregi kontaktidőt biztosító polimerek alkalmazásának indoklásaként azt írja: „a feltételt kielégítő formulációs segédanyagok egyike, a szájüregi mukóza epitél membránján permeabálni képes ciklodextrinek”.

Ezzel kapcsolatban több kérdés és észrevétel is fölmerül: Minek tulajdonítható, hogy a szájüreg mukózán a nagyobb molekulák permeabilitása kedvezőtlenebb? Továbbá, ha a permeabilitásnak kedvez a hosszabb szájüregi tartózkodás, abban miként segít a ciklodextrin, ami – mint írja – „az epitel membránon permeabálni képes”? Végül, ezt az utolsó mondatot, különös tekintettel a permeabálni főnévi igenévre, tudná-e magyar nyelvi szempontból rehabilitálni?

4. A bukkális PAMPA modell korrelációja ex vivo sertés száj nyálkahártyán mért adatokkal című fejezetben leírja, hogy a sertés száj nyálkahártya adataihoz hasonlítandó, három modellt fejlesztettek ki. Ezzel kapcsolatban több kérdés is adódik:

Legjobbnak bizonyult az önmagában dodekánnal kialakított modell. Bőr PAMPA esetében a dodekánt szilikonolajjal helyettesítette a jobb nedvesedés végett. Miért nem alkalmazott ilyet a bukkális esetben, hiszen a szájüregben a nyál még komolyabb, állandó, természetes nedvesítő ágensként is működik.

A sertés ex vivo nyálkahártyával az ún. szájnyálkahártya-specifikus lipidkeverékkel kialakított PAMPA modell mutatta a legszerényebb korrelációt. A rangszámkülönbségsorrend szerinti analízisben pedig az egyoldószeres, dodekán alapú és a gastrointesztinális lipid-koleszterin keverék után következik a szájnyálkahártya-specifikus modell. Nevezhető-e ez ezek után szájnyálkahártya-specifikus modellnek?

5. A 26. oldalon olvashatjuk: „A tápcsatorna endotéljének közel semleges töltésű lipidmembránjához képest...” Egy membrán, és általában bármi vagy semleges, vagy „töltésű”

6. A Di és mtsai által kifejlesztett PAMPA-BBB modellben mi indokolja, hogy a fogadó (lipid) oldat pH-ja is 7.4 legyen, tekintettel arra, hogy a központi idegrendszer, mint alapvetően lipoid közeg relatív permittivitása messze alacsonyabb, mint a vizes oldatoké, így a pufferek működése, pH-tartománya jelentősen megváltozik, kiváltképp az anionosból semlegessé protonálódó csoporttal rendelkező molekulák esetében.

7. A 28. oldalon az áll: „a referencia hatóanyagok kiválasztásánál fontos szempont volt, hogy agyi felszívódásukat aktív transzporterek ne befolyásolják.” Hogyan lehet erről meggyőződni? Van-e erre erre nézve objektív biztosíték (azon túl, hogy valamely irodalom ezt állítja)?

8. A 4. táblázat mutatja a membrán összetétel hatását a PAMPA – BBB modell előrejelző képességére, ahol az előrejelző képességet az R^2 értékek számszerűsítik és a színek is jelölik. Természetesen, a cél a minél jobb előrejelző képességet biztosító összetétel megtalálása, de a rossz előrejelző képességhez tartozó összetételnek is lehet tanulsága. A táblázat egyes rubrikáiban lévő értékek – érthető módon – viszonylag kevésbé térnek el közvetlen szomszédjaikétól, viszont – szintén érthető módon - jelentősebben eltérnek a kevésbé hasonló összetételű távolabbi szomszédjaikétól. Leginkább kilóg e tendenciából a 0.058 R^2 értékű, legvörösebb adat, mely így kiugróan rossz előrejelző képességet mutat. Van-e erre a jelenségre magyarázat?

9. A foszfolipidózis Tomizawa modelljében az egyes hatóanyagok pH=4-en érvényes nettó töltése szerepel, azzal a nyilvánvaló feltételezéssel, hogy a töltés pozitív, hiszen a kationos vegyületek okozzák a foszfolipidózist. Bár ez nem a jelölt munkája, érdemes lenne figyelembe venni azt a körülményt – legalább egy megjegyzés erejéig – hogy pH=4-en szép számmal vannak anionos hatóanyagok is, az acetyl-salicilsavtól a G- és V-penicillinen át a flufenámsavig.

10. A 46. oldalon azt írja: „A legjobb korrelációt a közvetlen citoszól – liposzóma irányú transzportot jellemző ... PAMPA modellben kapott eredmények mutatták.” Itt valószínűleg nem liposzóma, hanem lizoszóma a helyes fogalom.

11. A foszfolipidózis PAMPA modell kidolgozásánál vizsgált egyik rendszerre használt „gradiens” kifejezés helyett a valóságot jobban megközelítő elnevezést kellene találni, még akkor is, ha ez az irodalomban elterjedtté vált. A gradiens ugyanis a helynek (vagy más független változónak) a függvényében történő folytonos, törés nélkül változó mennyiségnek (pl. koncentrációnak) a jelölésére vonatkozik (pl. gradiens elúció, vagy diffúziós koncentráció-gradiens), itt azonban mindössze 2 diszkrét pH értékű, térben elkülönülő közegről van szó.

12. A foszfolipidózist prediktáló PAMPA modellben vizsgált, és álpozitívnak ill. álnegatívnak nevezett esetekben valóságos (tehát nem ál) foszfolipidózis esélynövekedés ill. csökkenés következik be. Ezt ugyan nem (vagy nem egyedül) az eredetileg vizsgált vegyület okozza, hanem a metabolitja, de attól még a foszfolipidózis esélyének megváltozása tényleges. Ezért helyesebb lenne ezeket az eseteket másként, pl. metabolikus PLD+ -nak ill. metabolikus PLD- -nak nevezni, annál is inkább, mert ez a metabolikus átalakulás az adott vegyületeknél in vivo körülmények között is bekövetkezik, és egy ilyen elnevezés a változás okát is megjelöli.

13. A 8. táblázatban lévő szövetspecifikus lipidkivonatok összetételének egyik jellemzője, hogy a membránalkotók 11 csoportba vannak osztva, melyek közül 9 kémiai egységes anyag, 1 hasonló anyagok keveréke (neutrális lipidek), 1 pedig az „Egyéb” kategóriába tartozik, vagyis ismeretlen anyag vagy anyagok keveréke, ami különösen nagy %-ban fordul elő a vese és a BBB esetében. Talán ezzel is összefügg, hogy az első vizsgálatok a tüdő modellen történtek, ahol az „Egyéb” hányada a legkisebb. A lipidkivonat összetételének viszonylag rossz definiáltsága mennyiben befolyásolja a kidolgozandó szervspecifikus modell megbízhatóságát?

14. A 19. ábra felirata lineáris korrelációt említ, amiben nem kételkedünk, de erre vonatkozó korrelációs együttható érték, vagy ezt mutató egyenes az ábrán nincs.

15. Az 59. oldalon „esetenként bázikus szerkezeti egységet tartalmazó alkaloidot” említ. Az alkaloidok – mint nevük is mutatja – definíciószerűen tartalmaznak bázikus szerkezeti egysége(ke)t.

16. Az 59. oldalon megállapítja, hogy a PAMPA–BBB jól használható növényi kivonatokat esetében is. Ez így van és öröndetes, de meglepetést nem okoz, hiszen működése nem aszerint szelektív, hogy a vizsgált vegyületek szintetikus, növényi

esetleg állati eredetűek, hanem nyilvánvalóan aszerint, hogy milyen molekuláris ill. fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, csakúgy, mint a valódi vér-agy gát esetében.

17. Hogy érti azt – amit a 69. oldalon ír - hogy „a természetes eredetű vegyületek (pl. a növényi szteroidok) gyógyszerkémiai szempontból ortogonálisak”.

18. Az „apolar crude extra” kifejezésre használt ACE rövidítés helyett célszerű lenne mást keresni, mert az ACE rövidítést a farmakológiai és gyógyszerkémiai szakirodalom kiterjedten használja az angiotenzin konvertáz enzim gátló (ACE gátló) gyógyszerek esetében, de ugyanez a hárombetűs akronima több más területen is meghonosodott, pl. régi fájlok archiválásában és bizonyos hardverekre is.

19. A zsálya kivonatokon végzett peroxinitrit – semlegesítési vizsgálatok summázatában írja, hogy a kidolgozott HPLC-DAD-peroxinitrit módszer lehetőséget biztosít a növényi kivonatokban lévő komponensek semlegesítő képességének kvantitatív jellemzésére is. A peroxinitrit kezelés előtti és utáni kromatogramokon látjuk, hogy mely zsálya-komponensek koncentrációja csökken vagy akár nullázódik. Ez több kérdést is fölvet: Próbáltak-e a kromatogramok alapján kvantitatív megállapításokat tenni, pl. egyensúlyi állandók számítására, ill. hogy az egyes növényi mintákban várható antioxidáns mennyiséghez képest milyen sztöchiometriai arányban adták a peroxi-nitritet.

20. A 86. oldalon azt olvashatjuk, hogy „növényi kivonatok esetében az egyes antioxidáns hatással rendelkező komponensek befolyásolják egymás hatását.” Van elképzelés arra, hogy a komponensek miként szinergizálják egymás hatását?

21. A 92. – 93. oldalon azt írja, hogy a pKa meghatározások három legfontosabb módszere, a potenciometriás titrálás, a spektrofotometria vagy UV/pH titrálás és a kapilláris elektroforézis csak a makroállapotok és így a makro egyensúlyi állandók mérésére szolgál. Ez a megállapítás úgy módosítandó, hogy származékvegyületek beiktatásával, azaz deduktív módszerrel bármelyik fenti módszer alkalmassá tehető mikroállandók meghatározására is, ill. szimmetrikus vegyületek esetén azokra sincs szükség, továbbá ezen technikák kombinációja (pl. potenciometria plusz UV-pH titrálás) szintén alkalmas, sőt, gyakran alkalmazott módszer, végül pedig, ha pl. egy-egy funkciós csoport protonálódását szelektíven mutató sávot találunk az UV spektrumban, akkor ez a módszer önmagában is alkalmas lehet mikroállandók meghatározására.

22. A 112. oldalon az áll, hogy „...a felhasznált adatok igaz egy irányban, de eltértek a mi méréseinktől” Ezzel kapcsolatban megjegyzendő, hogy az egy irányban való eltérés általában súlyosabb, nem véletlenszerű, hanem szisztematikus hibára utal, aminek oka gyakran felderíthető.

23. Az arilfoszfonsavak két pKa értékkel rendelkeznek a foszfonsav két savi csoportja jóvoltából, amely csoportok a foszfonsav molekularész foszfor – szén kötésének szabad rotációja következtében egyenértékűek. Ilyen szimmetrikus esetben az első ill. a második savi disszociációs lépésre vonatkozó mikroállandók is számíthatók, amik már nem a molekula egészére, hanem annak konkrét csoportjára jellemzőek, a molekula egy

definiált protonáltsági állapotában, így mélyrehatóbb képet adnak az adott molekulán belül uralkodó elektronsűrűségi viszonyokról, ezzel informatívak lehetnek a farmakokinetikai és farmakodinámiai viselkedés predikciójában is, nem utolsósorban pedig, a mikroállandókkal végezhető Hammett összefüggések számításával beható ismeretek szerezhetők a molekulán belüli mezomer és egyéb elektronikus folyamatokról. Végeztek-e ilyen mikroállandó-számításokat? Itt jegyezném meg, hogy a karboxil-csoportot is tartalmazó arilfoszfonsavak NMR – pH titrálása alapján a háromcsoportos, a foszfonsav részen szimmetrikus molekulára vonatkozó mikroállandók is meghatározhatók, amelyek alapján esély van nemcsak a redukált, hanem a teljes molekulacsaládra vonatkozóan is a Hammett összefüggések megállapítására.

24. A 3.6.1. fejezet a 9-akridinkarbonsav származékok kapcsán jelentős mértékben foglalkozik a pK_a értékek mérés nélküli, in silico számítási módszereinek értékelésével, és a munka ezen kívül külön, részben 65% metanolos közegű vizsgálatokat szentel annak eldöntésére, hogy a pK_{a1} , ill. pK_{a2} érték döntően a karboxil vagy a protonált akridin nitrogén savi disszociációjához rendelhető, mert ez szabja meg, hogy savas közegben (pH 5 alatt) a töltésmentes vagy az ikerionos forma-e a domináns részecske. A disszertációban leírt döntés nyilvánvalóan helyes. A Marvin és az ACD Classic számításokkal kapott eredményekről azonban leírja, hogy elvi hibásak, mert a pK_{a1} értéknek szükségszerűen kisebbnek kell lenni, mint a pK_{a2} -nek, minimálisan 0.6 (2-szer $\log 2$) egységgel, ami komplexkémiai irodalomban a statisztikus esetnek nevezett alsó határérték.

25. Mint a 119. oldalon írja „Az eredmény alapján így a pK_{a1} értékek savas, míg a pK_{a2} értékek bázikus csoporthoz kapcsolhatók. Mivel a nevezett pK_a értékek makroállandók, amelyek 2 vagy többcsoportos molekulák esetén definíciószerűen nem rendelhetők funkciós csoporthoz, a fenti mondatot úgy kell módosítani, hogy dominánsan savi ill. bázikus csoporthoz tartoznak.

26. A 119. oldalon azt írja, hogy az akridino-korona származékok és a **11** vegyület esetén, a **34**-hez képesti pK_{a2} csökkenés alapvetően a makrociklus, ill. **11** esetén a két metoxi csoport szterikus gátlásával magyarázható. Bár a makrociklusnak valóban van proton-repellens hatása, ami metoxi csoport esetén nyilvánvalóan kisebb, a bázicitás-csökkenésben bizonyosan komoly, sőt, valószínűleg elsődleges szerep jut az akridin 4-es és 5-ös szénatomjához kapcsolódó, elektronszívó oxigén atomoknak.

27. A diarilfoszfonsavakat tárgyaló fejezet első mondatában diarilfoszfonsavat ír, csakúgy, mint a 128. oldalon.

28. A 125. oldalon szerves oldószerben (membránban) való „egyirányú megoszlás”-ról ír, amit talán értünk is, de a megoszlás ab ovo nem egyirányú.

29. A 128. oldalon az áll, hogy „az előzetesen számolt (Marvin) és mért pK_a értékekben a legnagyobb eltérést **6** és **19** koronaéter származékok esetében kaptuk.” A 19. táblázat

azonban azt mutatja, hogy legnagyobb az eltérés (3.17 pKa egység) **2** esetén fordul elő, vannak továbbá 2 fölötti eltérések is, de **19** esetén ez csupán 0.56.

30. A 17. táblázatban látható, irodalmi módszerekkel számított pKa adatok kritikai értékelésében a szerző azt mondja, hogy ezek korlátozottan használhatók. Ez igencsak diplomatikus fogalmazás. Amikor ugyanis azt látjuk, hogy pl. az (R,R)-2 alapvegyületre a mért, valós pK_{a2} érték 3.66, amire az egyik számítási program mínusz 0.26-os értéket, egy másik pedig +7.56-os értéket ad meg, vagyis az ugyanolyan ionizációs állapot eléréséhez a két számítás szerint 8 pH egységnyi eltérés adódna, amekkora pH különbség az emberi szervezetben elő sem fordul. akkor e módszerekről nyugodtan kimondhatjuk, hogy fabatkát sem érnek.

31. A hatóanyag - ciklodextrin – víz – oktanol rendszerben érvényes hatóanyag – ciklodextrin komplexképződési állandó meghatározásának milyen előnyei vannak a korábbi, ismert komplexképződési állandó – meghatározási módszerekhez képest?

Formai értékelés: A disszertáció mértéktartó terjedelemben készült és tetszetős kivitelű, a nyelvtani, helyesírási hibák azonban nem ritkák. Az értekezés egészével szemben támasztható formai hiányosság, hogy nincs benne táblázat a rövidítések feloldására, ami egy ilyen – erősen multidiszciplináris – értekezésben különösen hasznos lenne, és bizonyos rövidítések többszöri magyarázatát is elkerülhetővé tenné.

Nyelvi, helyesírási hibák, melyek esetenként csak szövegkörnyezetükben érthetők, előfordulásuk oldalszámának a megjelölésével:

10. oldal: tesztrendszereket

17. oldal: A mérés kaukázusi...

18. oldal: ábra fölött 9. sor: ami megfelel fiziológiás komponens arányak

19. oldal: 5.-6. mondat

22. oldal: gasztrointesztinális

37. oldal: csökkentett

39. oldal: F1-el kapott

41. oldal: permabilitási

43. oldal: PLD-al

53. oldal: RP C18-al

57. oldal: nőt

59. oldal: 19. ábra papverin

64. oldal: mennyisének

68. oldal: ekdiszterFoid

70. oldal 2. mondat, és 71. oldal alulról a 9. sor tárgyas ragozás

70. oldal: relatív alacsonyak adódott

73. oldal: borgatást

74. oldal: 4. mondatban vannak nyelvi hibák, pl. tárgyeset, ill. „modelleit”

94. oldal: ab inito

97. oldal: artificial

102. oldal: A Táblázat címében: használ szoftverek

104. oldal: minkét

105. oldal: nőt

110. oldal: átalagos

111. oldal: összehasonlításhoz

112. oldal: legelső mondat

119. oldal: koronéter

119. oldal: 34-el

120. oldal: 10 szélekörű

120. oldal: nőt

129. oldal: komformert

130. oldal: szignifikánsan

Ezen kisebb-nagyobb hibák felsorolása után hangsúlyozandó, hogy azok formai jellegűek, az értekezés lényegi, általános értékét a Bírálóat következő fejezete tartalmazza:

Összefoglaló értékelés:

Balogh György Tibor értekezése értékes munka, mely alap- és alkalmazott kutatási eredményeket egyaránt tartalmaz, az akadémiai doktori fokozattal szemben támasztott követelményeknek tartalmi, mennyiségi, tudománymetriai és formai szempontokból is megfelel. A benne foglalt eredmények fontos ismeretekkel gazdagítják tudásunkat a bio- és gyógyszerkémiaili folyamatok részletes megismerése és gyógyászati befolyásolása érdekében.

Mindezek alapján a nyilvános vitára tűzést határozottan javaslom.

Budapest, 2020. április

Dr. Noszál Béla sk.

